

Trabajo de grado para aspirar al título de Medicina Veterinaria y Zootecnia
**USO DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN EQUINOS: REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA
LITERATURA**

Por:

Cristhian David Lagos Marín

Asesor:

Lyda Caballero Méndez

Universidad Tecnológica de Pereira
Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Pereira - Risaralda
2018

USO DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN EQUINOS: REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA

Cristhian David Lagos Marín¹; Lyda Caballero Méndez²

¹Estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Tecnológica de Pereira. ²Docente-Asesor, Programa Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Tecnológica de Pereira

Resumen

Se presenta una revisión sistemática de la literatura acerca del plasma rico en plaquetas (PRP), también conocido como concentrado rico en plaquetas (CRP), gel de plaquetas autólogo (GPA) y plasma rico en factores de crecimiento (PRF). Tras la introducción se expone la composición del PRP, haciendo énfasis en los factores de crecimiento que lo componen, el uso que ha tenido en los equinos de deporte, especialmente en la regeneración de tejidos para el tratamiento de tendinopatías, desmitis y los métodos de obtención.

Los tratamientos que emplea el PRP en los equinos de deporte mimetizan los procesos que suceden durante la cicatrización debido a la liberación de diversos factores de crecimiento y otras moléculas bioactivas como la fibronectina (proteína que más contribuye a la regeneración de tejidos dañados), con el fin de optimizar el entorno de curación local y la seguridad del procedimiento.

En medicina veterinaria el uso de plasma rico en plaquetas ha generado grandes expectativas en la reparación ósea, lesiones como tendinopatías, heridas, desmitis equina y en medicina regenerativa. Se espera que el aumento de los niveles de factores de crecimiento autólogos y proteínas secretoras

proporcionadas por las plaquetas concentradas, mejore los procesos biológicos asociados a la reparación y regeneración de los tejidos.

Palabras claves: Plasma rico en plaquetas, Factores de crecimiento, autólogos, terapias regenerativas, tendinopatías, desmitis equina.

Abstract

We present a review of the literatura on platelet-rich plasma (PRP), also known as platelet-rich concéntrate, autologous platelet gel, and plasma rich in growth factors. After the introduction, we expose the composition of the platelet-rich plasma, emphasizing the growth factors that make it up, it benifical use in sports horses, especially in the regeneration of tissues for the treatment of tendinopathies and desmitis, as well as the methods to obtain it.

The treatments that use PRP in sports horses mimic the processes that occur during healind gue to the reléase of various growth factos and other bioactive molecules such as fibronectin (the protein that contributes most to the regeneration of damaged tissues), in orfer to optimize the local healing enviroment and the safety of the procedure.

In veterinary medicine the use of platelet.rich plasma has generated great expectations in bone repair, injuries such as tendinopathies, wounds, desmitis and in regenerative medicine. It is expected that the incrase in the levels of autologous growth factors and secretory proteins provided by concentrated platelets will improve the biological processes associated with the repair and regeneration of tissues.

Key words: platelet rich- plasma, growth factors, autologous, regenerative therapies, tendinopathies, equine desmitis .

Introducción

En Colombia el entorno equino se ha venido expandiendo de manera rápida dentro de los distintos estilos de deporte como carreras, salto, adiestramiento, carreras de resistencia, enduro, polo y competencias de caballos de paso colombiano. Este tipo de equinos tiende a aumentar las lesiones en tejidos blandos, debido a la alta exigencia del entrenamiento a la que son sometidos. Las heridas más comunes son las tendinosas, las de ligamento, en la región distal de los miembros y las fracturas de cartílagos articulares. Uno de los sitios con mayor lesión es la articulación del carpo (ubicada entre el radio y el metacarpo) específicamente en los caballos de carrera (1,2) .

Debido a que el sistema musculo esquelético tiene baja capacidad regenerativa, por su poca vascularización y aporte sanguíneo necesario, para una adecuada remodelación tisular, se han venido instaurando distintos tratamientos, principalmente, el Plasma rico en plaquetas PRP (3); este tratamiento se ha venido recomendando en los equinos de deporte como una forma de introducir mayores concentraciones de los factores de crecimiento y moléculas bioactivas como fibronectina a los tejidos lesionados, con el fin de optimizar el medio de curación (4). Se ha comenzado a utilizar cada vez más como tratamiento de lesiones como tendinopatias y artritis; con la confianza de que el aumento de los niveles de factores de crecimiento autólogos y proteínas secretoras proporcionadas por las plaquetas, optimice los procesos biológicos asociados a la reparación y regeneración de tejidos (4,5).

Una lesión musculo esquelética es una consecuencia común de sobreesfuerzos físicos, que afecta la calidad de vida de los equinos. Se sabe que los equinos de deporte presentan un porcentaje alto de claudicaciones en las extremidades anteriores que en las posteriores (60% vs 40%), debido a que el centro de gravedad del equino está más cerca de sus extremidades anteriores. En algunos casos donde el deportista tiene que realizar alguna carga o debe de llevar un carruaje cambia el porcentaje entre las extremidades

anteriores y posteriores (55% vs 45%) debido a que su centro de gravedad se desplaza hacia la región caudal; en los caballos que realizan salto tienden a presentar un incremento de las lesiones en los miembros posteriores debido al esfuerzo y propulsión que deben realizar(6). El 95% de las lesiones que encuentran los médicos veterinarios hoy en día están situadas en las partes anatómicas distales al carpo, el 46% de las lesiones corresponden a tejidos blandos (TB), ligamento suspensorio (LS), tendón flexor digital superficial (TFDS), tendón flexor digital profundo (TFDP); otra de las lesiones más comunes en los equinos de deporte son los problemas articulares donde el 60% de las cojeras están relacionadas con la osteoartritis (OA). Este tipo de lesiones llevan al deportista a un periodo largo de incapacidad o retorno insatisfactorio al rendimiento(6). Formas de intervenciones ortopédicas son necesarias para poder restaurar la funcionalidad normal y la estructura del aparato locomotor, las cuales podrían beneficiarse del tratamiento con PRP(7).

Se sabe que la terapia con PRP tiene mayores beneficios para la reparación de tejidos; el PRP tiene como objetivo proporcionar concentraciones suprafisiológicas de plaquetas y leucocitos para la regeneración de tejidos como tendones y ligamentos (3,8). El 60% de los pacientes equinos a los que se deben intervenir con el tratamiento, presentan problemas de cojeras, osteoartritis, tendinopatias, heridas, fracturas, úlceras corneal, laminitis (9). La implementación de plasma rico en plaquetas (PRP) en los equinos de deporte se ha venido manejando de manera incorrecta, por desconocer los distintos protocolos que se tienen en el momento realizar la preparación del plasma y el manejo adecuado del paciente (10).

De este modo, es necesario realizar una revisión sistemática de la literatura, en las principales bases de datos como Google Académico, Scopus, PudMed y Springer y así demostrar los grandes beneficios del uso del plasma rico en plaquetas en los equinos de deporte, para la recuperación de tejidos y los diferentes métodos de obtención (11). El manejo con PRP podría potenciarse,

además, con la utilización de tratamientos combinados con moléculas seleccionadas para cada aplicación clínica.

Objetivo General

Realizar una búsqueda sistemática que permita demostrar la efectividad del Plasma Rico en Plaquetas en el tratamiento de tendinitis y desmitis en los equinos de deporte.

Específicos:

- Conocer los sitios de lesión donde más se utiliza el plasma rico en plaquetas.
- Reconocer las ventajas del plasma en los equinos de deporte.
- Adquirir información determinada sobre los estudios del plasma y sus usos.

Historia

Las plaquetas fueron las ultimas en ser descubiertas; su identificación se atribuye al trabajo realizado por médico Francés Alfred Donne en los años de 1842. Un análisis histórico hecho recientemente señala que el anatomista alemán Max Schultze confirmó la existencia de las plaquetas y fue el primero en hacer su descripción en 1862(12,13).

Los trabajos del médico Francés George Hayem en 1878 y del patólogo Italiano Giulio Bizzorero en 1882, aportaron más información sobre las plaquetas; las ideas del francés sobre el origen y desarrollo de las plaquetas estaban equivocadas, pues pensaba que las plaquetas contaban con hemoglobina y eran precursoras de los hematíes. Por otro lado Bizzorero los describió como unas “esferulas” menores que los hematíes, las que en ocasiones aparecían como agregados y podían participar en la formación de un material fibroso. Se

demostró que las plaquetas no tenían núcleo, ni contenían hemoglobina, como lo había descrito Hayem. La continuación de sus estudios lograron aportar valiosa información sobre el proceso de coagulación sanguínea(13).

El primer factor de crecimiento fue descubierto por la neurofisióloga Rita Levi en 1948 y fue denominado como factor de crecimiento nervioso (NFG) y el segundo factor de crecimiento fue descubierto por Stanley Cohen en 1952 denominado como factor de crecimiento epidérmico (EGF), ambos comparten el premio nobel de medicina en 1986 (14).

Una de las primeras personas en trabajar con medicina regenerativa en el año de 1957 fue “Edward donnall Thomas con trasplantes de médula ósea (células madre hematopoyéticas). En los años 70 Friedstein describió por primera vez la presencia de células adherentes en la medula ósea (UFCF siglas en inglés) capaces de originar hueso y cartílago”(8).

En la década de los 90`s, otro grupo de investigadores dirigidos por Marx. Estudiaron el comportamiento del elemento de la sangre responsable de la reparación celular, las plaquetas y encontraron tres factores de crecimiento y posteriormente en 2004, este mismo investigador reporta siete factores de crecimiento presentes en el plasma. También descubrieron que las células madre del hueso esponjoso presentaba receptores para los factores de crecimiento, y pudieron confirmar un aumento en la velocidad y grado de formación ósea durante al menos 6 meses(15). En 1999, Anitua y colaboradores reportaron por primera vez en la literatura el concepto de la tecnología de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF-Endoret). El termino PRGF se identifica con una formulación 100% autóloga y biocompatible, siendo los protocolos estandarizados y diseñados por el Doctor Eduardo Anitua y su grupo de trabajo(16).

En los últimos 20 años se ha producido un extraordinario avance en los conocimientos relacionados con diferentes ramas biomédicas entre ellas, la

biología celular, lo que ha dado un notable impulso a la medicina regenerativa(17).

Medicina Regenerativa.

La medicina regenerativa es un proceso que reemplaza o restablece las células de los tejidos y ayuda a conseguir una restauración completa, permitiendo la recuperación de tejidos que se consideran irreparables(18). Esta disciplina actualmente es un campo nuevo para los médicos veterinarios, la cual permite realizar nuevos tratamientos innovadores y prácticos, utilizando componentes biológicos, las cuales usan la capacidad natural del cuerpo para regenerar tejidos o lesiones; en la actualidad son pocos los tratamientos que se utilizan en la medicina veterinaria, pero la mayoría de los tratamientos instaurados son el uso de PRP, células madre y tejido adiposo. En la medicina equina uno de los primeros tratamientos utilizados fue el suero autólogo acondicionado conocido por sus siglas en inglés como IRAP; este tratamiento tiene un efecto analgésico y antiinflamatorio, basado en la inhibición de la interleuquina 1 (IL-1), importante mediador inflamatorio, el método se basa en el aumento selectivo de la proteína antagonista del receptor de IL-1 (IRAP) a partir de la sangre del propio paciente. Este tipo de tratamientos fue utilizado para restaurar lesiones en tendones y ligamentos, por otro lado el tratamiento con IRAP está más enfocado en el tratamiento de osteoartritis (OA) equina, pero su complejidad y alto costo hacen que su aplicación en medicina veterinaria sea cada vez menos utilizada frente al PRP en el tratamiento de OA(3). Uno de los mayores aportes a la medicina regenerativa fue el (APC siglas en inglés) conocido como (PRP) el cual ayuda a activar de forma natural la reparación en lesiones de tendones, cartílagos articulares y ligamentos. Este tipo de terapia aporta más de 20 factores de crecimiento, citoquinas y quimioquinas(19).

Plasma Rico en Plaquetas (PRP)

El plasma rico en plaquetas (PRP) se define como una fracción de plasma de sangre autóloga con concentraciones de plaquetas por encima de los valores basales(20) el valor aproximado de plaquetas plasmáticas oscila entre 92 y 274 $\times 10^3$ / μ l en equinos. Se ha considerado que la concentración de plaquetas de 1.000.000 / μ l es el valor ideal para que haya un aporte de factores de crecimiento en el momento de la consolidación de huesos y tejidos blandos(21).

El PRP es un hemocomponente autólogo que se utiliza para liberar los factores de crecimiento en los lugares donde se pretende ayudar a la reparación de una lesión de un tejido, favoreciendo al proceso de cicatrización(19). El PRP autólogo es una gran composición de factores de crecimiento naturales dentro de un coágulo normal que interviene de transportador. El coagulo se compone de fibrina, fibronectina, y victronectina, que son moléculas de adhesión requeridas para la migración celular. Las plaquetas presentes en el Plasma Rico en Plaquetas son una fuente particular de varios factores de crecimiento (FC) almacenados en sus gránulos alfa, estos contienen más de 30 proteínas bioactivas y muchas de estas proteínas tienen el papel de actuar en la reparación de tejidos(21,22).

Bioquímicamente, el PRP se compone de suero, leucocitos, plaquetas y factores de crecimiento, la presencia de todos estos elementos favorecen a la acción del PRP en la regeneración del tejido lesionado; los elementos fundamentales dentro de este conjunto son los factores de crecimiento; que estimulan principalmente la reepitelización, la angiogénesis, la mitosis celular, la síntesis de colágeno y la quimiotaxis de los osteoblastos, macrófagos, fibroblastos, monocitos y leucocitos. El uso de PRP en lesiones cutáneas es importante ya que la cicatrización de las heridas por segunda intención incluye inflamación crónica, contracción débil en el desarrollo del tejido de granulación y epitelización lenta. El PRP contiene los siguientes factores de crecimiento: el

factor de crecimiento de origen plaquetario (PDGF), el factor de crecimiento de transformación-beta (TGF- β), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el (23).

Los efectos de los factores de crecimiento pueden ser descritos reconociendo también la respuesta mediada por el tipo de receptor; receptores asociados a proteínas G, receptores tirosinquinasa, receptores serin/treonin quinasas. Por ello, el PRP radica en reformar, arreglar la forma y restaurar la función perdida por la lesión (21).

El uso del PRP en la medicina veterinaria de equinos, ha sido descrita de el tratamiento de patologías que afecta los tendones y articulaciones, estos estudios revelan ventajas comparativas en términos de recuperación de la movilidad, mejoría en la claudicación clínica, disminución del dolor, retorno al ejercicio y evidente recuperación ecográfica de las estructuras que sufren la lesión, una de las excepciones a esta es la de desmitis del ligamento suspensorio. Las características importantes de este tipo de tratamientos es la ausencia de reacciones inmunológicas y la nula posibilidad de transmitir enfermedades(24).

Las plaquetas tienen alto contenido de factores de crecimiento, péptidos responsables de la regulación del metabolismo celular. La regulación se ocasiona por medio de las vías de señalización intracelular, cuando se produce una interacción con un complejo de receptores de la misma familia; esto produce un aumento de los factores de crecimiento y una producción de proteínas que desencadenan la proliferación celular, regeneración de matriz extracelular y estimulación de angiogénesis que facilita la reparación del tejido(10).

Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento (FC) son un conjunto de sustancias de naturaleza peptídica la cual tienen como tarea realizar la comunicación molecular. Este tipo de sustancias tienen la capacidad de modificar las respuestas tanto biológica como celular, ya que normalizan la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular, incluyendo la apoptosis. Los factores de crecimiento (FC) operan de manera local. La estimulación celular se efectúa por medio del sistema autocrino, donde las células producen y responden al mediador biológico y por el sistema paracrino en el que la célula produce el factor de crecimiento y actúa en las proximidades de las células. En general, los factores de crecimiento son sintetizados y secretados en forma de precursores y, para la liberación del factor en forma activa es necesario un proceso de proteólisis específico(14,25).

Los factores de crecimiento tienen un comportamiento celular por consecuencia de la unión de receptores de membrana y proteínas de matriz extracelular. La unión de estos receptores provoca una serie de eventos moleculares. Para cada uno de los factores existe un receptor específico. Las células responden al factor de crecimiento, si disponen de la proteína receptora específica. El proceso está mediado por un sistema de segundos mensajeros donde interviene una proteína tirosinquinasa. Durante este mecanismo, la acción de los factores en la lesión continúa, aunque se desaparezcan los mismos del medio, ya que han sido activados los segundos mensajeros(14,25,26).

La función principal de los factores de crecimiento es el control externo del ciclo celular mediante el abandono de la quiescencia celular y la entrada de la célula en fase G1. Los factores de crecimiento al aumentar la síntesis proteica estimulan el aumento del tamaño de la célula sobre la que actúan. Otra de las funciones importantes que cumplen los factores de crecimiento a nivel celular es la estimulación de la replicación celular (mitogénesis) de las células

osteoprogenitoras que hacen parte de la cicatrización de una lesión tisular del tejido conectivo, asimismo estimulan la replicación de células endoteliales, conformando nuevos capilares en el tejido de cicatrización (angiogénesis), siendo un componente en el momento de la cicatrización de la lesión(14,25).

En cuanto a su clasificación, los factores de crecimiento se pueden clasificar según su especificidad: amplia o reducida. Los factores de especificidad amplia como factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor derivado de las plaquetas (PDGF) actúan sobre diferentes tipos de células como: fibroblastos, fibras musculares y células no epiteliales y epiteliales; en cuanto a los factores de especificidad reducida interviene la eritropoyetina, que solo induce la propagación de los precursores de los eritrocitos (27).

Factores de crecimiento presentes en la regeneración tisular.

1. Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)

Este factor es llamado así por encontrarse en las plaquetas donde es almacenado en los gránulos α . El PDFG se puede hallar en otro tipo de células como macrófagos, células endoteliales, fibroblastos, monocitos y queratinocitos. Es un polipéptido que bajo un estrés calórico de hasta 100°C permanece estable, tiene una naturaleza catiónica, con un punto isoeléctrico de 10,2 y su peso molecular es de 30.000 daltons. Posee una estructura dimerica, constituida por dos cadenas de aminoácidos denominados A y B, que comparten un 60% de igualdad en su estructura(26,28,29).

El PDGF comprende una familia de factores de crecimiento homo o heterodimericos incluyendo PDGF- AA, PDGF- BB y PDGF- AB; para que los factores se activen dependen de la presencia de los receptores α ; para que las formas AB y BB del factor se presenten se deben presentar receptores β . El estimulador más potente de la mitogénesis es el factor PDGF- BB, seguido de AA y AB (25,29).

El factor PDGF ocupa un papel muy importante en cada fase de la cicatrización. Tras una lesión, es liberado de las plaquetas en degranulación y se encuentra presente en el exudado de la herida; estimulando la producción de mitogenicidad y quimiotaxis de neutrófilos, macrófagos, fibroblastos y células de musculo liso al sitio de la herida. Además, estimula y activa a macrófagos para la producción y secreción del factor de crecimiento transformante β , aumentando el desbridamiento tisular mediado por macrófagos y formación de tejido de granulación. Los efectos de PDGF al inducir la angiogénesis son dependientes del órgano. La producción de PDGF en las células cardiacas microvasculares ayudan a la inducción del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y el receptor – 2 de VEGF, sugiriendo un papel importante en la angiogénesis cardiaca(25,30).

Otras de las funciones del factor es la de ayudar en la reepitelización *in vitro*, regulando la producción del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) y trombospodina-1. Se ha demostrado que el PDGF mejora la proliferación de fibroblastos y la matriz extracelular; estimula a los fibroblastos presentes para contraer matrices de colágeno e inducir el fenotipo de miofibroblastos en estas células. En la remodelación tisular el factor incluso contribuye en la eliminación de colágeno antiguo para regular la metaloproteinasa de matriz. Diferentes estudios reportan el papel del PDGF en la estimulación de la actividad mitogénica y quimiotaxis de los osteoblastos, estimulación de condrocitos y la mitogenicidad de las células mesenquimales y la influencia en facilitar la formación de colágeno tipo 1 (29–31).

2. Factor de crecimiento transformante β (TGF-beta)

Se designa el nombre porque se aisló primero en los tejidos transformados (sarcomas). Existen dos tipos α y β . Posee una estructura dimerica, formada por subunidades de 112 aminoácidos. Tiene un peso molecular total de 25.000

daltons, dividido en dos subunidades de 12.500 daltons, acopladas por puentes de disulfuro. Un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 19 es el responsable de su síntesis(26) .

Los TGF- β se comprende de una familia de proteínas que incluye: activinas y la proteína morfogénica del hueso (BMP y TGF – β 1-3. Los TGF- β 1, TGF – β 2 y TGF – β 3 Son las isoformas encontradas principalmente en mamíferos, en la cicatrización cutánea predomina el TGF - β 1. También se encargan de regular diferentes funciones celulares como proliferación, apoptosis, diferenciación, migración de una amplia variedad de tipos celulares. Estos además actúan, como factores de crecimiento paracrino, afectando principalmente fibroblastos, células madre mesenquimales y preostoblastos (25).

Son producidos por plaquetas, fibroblastos, queratinocitos y macrófagos y ejecutan su función mediante un complejo de receptores heterodimericos. En la cicatrización tisular. El TGF - β 1 es importante en la reepitelización, en procesos inflamatorios, angiogénesis, regeneración de tejido conectivo, quimiotaxis, proliferación y diferenciación de células mesenquimales, mitogénesis de osteoblastos y regeneración de tejidos. En el inicio de la lesión se presenta una mayor expresión del factor. El factor de crecimiento transformante β 1 facilita el reclutamiento de células inflamatorias adicionales y aumenta un desbridamiento tisular intervenido por macrófagos. En estudios realizados se demuestra, su relación con la producción de colágeno tipo I y sobrerregulación de colágeno tipo II. En cuanto a las isoformas TGF – β 2 y β 3 han demostrado tener un papel importante en la cicatrización, incorporación de células inflamatorias y en la migración de queratinocitos. Las funciones más importantes de las isoformas TGF - β 1 y β 2 parecen ser la quimiotaxis y mitogenesis de precursores de osteoblastos (25,32).

El TGF - β 3 es considerado un potente estimulador de la síntesis de proteoglicanos y colágeno tipo II en condrocitos, a su vez es capaz de inducir diferenciación condrogenica de CMMs *in vitro* e *in vivo* facilitando la migración fibroblastos y queratinocitos al sitio de la herida(25,29).

Las moléculas presentes en el factor de crecimiento transformante (TGF) inician la vía de señalización desde la superficie de la célula al interactuar con los receptores de tipo I y II, dependiendo de los ligandos a los que se unen. Después de la unión al ligando, el receptor tipo II activa el receptor tipo I, que fosforila los mediadores presentes en la célula: Smads 1,5 y 8 después de la activación de BMP y Smads 2 y 3 y el TGF- β , después de ser activadas se produce una translocación de las Smads al núcleo donde participan en la transcripción de genes. Los TGF- β 1, 2 y 3 activos se consideran potentes estimuladores de los proteoglicanos y de la síntesis de colágeno tipo II en los condrocitos y son capaces de inducir la diferenciación glucógena(33).

3. Factor de crecimiento tipo insulínico (IGF)

El factor de crecimiento tipo insulínico es conocido también como somatomedina C. Sus principales actividades son la mitogénica, anabólica y mediadora de algunas acciones de la hormona de crecimiento, siendo una hormona similar a la insulina. Participa en la síntesis de proteoglicanos y colágeno II, inhibe la destrucción de la matriz extracelular y favorece la adhesión de los condrocitos al colágeno tipo II. La IGF-1 es el principal factor de crecimiento anabólico, desempeña un papel importante en la osificación de tipo endocondral en el cartílago del crecimiento, teniendo actividad en la osificación endocondral de la reparación de las fracturas. La IGF-2 es el factor de crecimiento más abundante en el hueso, y presenta acciones similares a la tipo I (siendo menos potente en el estímulo celular), teniendo un papel más

importante en el desarrollo embrionario y fetal. El factor de crecimiento tipo insulínico desempeña un papel muy importante en el crecimiento y desarrollo óseo(34,35).

El factor IGF-1 es un péptido de 70 aminoácidos, es considerado como una hormona metabólica, tiene efectos sobre la proliferación, diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento. Este factor provoca hiperpermeabilidad de vasos sanguíneos, es un potente mitógeno que estimula la síntesis de matriz extracelular (ECM), y proapoptótico, permitiendo la diferenciación de células endoteliales, renales, gliales y fibroblastos. Tiene efectos angiogénicos, puesto que incrementa la expresión de VEGF. Los beneficios adicionales para el uso intralesional de IGF-1 incluyen un aumento en el ADN y de la síntesis de colágeno, una mejora en la ecodensidad del parénquima del tendón, y una tendencia hacia el aumento de la resistencia (25,36).

El uso de este factor asociado al TGF- β aumenta la producción de proteoglicanos. El IGF-II es un polipeptido de 67 aminoácidos, con un tamaño de 7.5 kDa. Juega un papel importante en la proliferación celular estimulándola e induciendo la diferenciación celular(37).

4. Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF).

Los miembros de esta familia se incluye: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E y el factor de crecimiento plaquetario (PLGF). Las células de músculo liso, plaquetas, neutrófilos, macrófagos, queratinocitos, fibroblastos y células endoteliales ayudan a la producción de VEGF-A-. Entre las funciones que

cumple el VEGF-A se destaca la vascularización de los tejidos lesionados, debido a que promueve de manera temprana eventos de angiogénesis, especialmente migración y proliferación de células endoteliales(25).

EL VEGF-C se puede encontrar durante el proceso de cicatrización. Este factor es liberado principalmente por macrófagos y es importante durante la fase inflamatoria de la cicatrización. Diferentes estudios han demostrado que este factor cumple un papel en la linfoangiogénesis y la angiogénesis(25).

El factor de crecimiento plaquetario (PLGF) al ser una molécula pro angiogenica desempeña una función importante durante el proceso de inflamación de la cicatrización. En la piel es expresado por queratinocitos y células endoteliales. El PLGF promueve la quimiotaxis de monocitos y movilización de células precursoras derivadas de la medula ósea. Otras de sus funciones es la de originar la formación de tejido de granulación, vascularización y maduración(26).

5. Factor de crecimiento epidérmico (EGF).

Los factores de crecimiento con mejor caracterización en la cicatrización tisular son los de la familia EGF. Este factor es secretado por macrófagos, fibroblastos y plaquetas. Es un potente mitógeno de queratinocitos y participa en procesos de reepitelización, regulación de secreción de colagenasa y estimulación de quimiotaxis y angiogénesis endotelial, ayuda en la proliferación celular y es altamente expresado en el margen de las heridas. Uno de los miembros de esta familia es el factor de crecimiento transformante α (TGF- α) secretado por queratinocitos, macrófagos, plaquetas, fibroblastos y linfocitos. Participa en la estimulación y mantenimiento de la epitelización de la herida(24,25).

6. Factor de crecimiento fibroblástico (FGF).

Esta familia de factores está compuesto por 23 miembros; pero solo tres son los más importantes en la cicatrización cutánea de heridas el FGF-2, FGF-7 y FGF-10. Estos factores son producidos por queratinocitos, células endoteliales, células del músculo liso, fibroblastos, condrocitos y mastocitos. La acción que ejerce en la cicatrización esta mediada por un receptor de alta afinidad (FGFR), el cual es una proteína transmembrana tirosin quinasa(26).

Principalmente el FGF se presenta aumentado en heridas agudas y cumple un papel importante en la formación de tejido de granulación, reepitelización y remodelado de tejido. El FGF-2 ayuda a regular la síntesis y deposición de varios componentes de matriz extra celular, aumenta la motilidad de queratinocitos durante la reepitelización y promueve la migración de fibroblastos, estimulando por lo tanto la producción de colágeno. Ayuda a la inhibición de osteoclastos y pro angiogénesis por acción quimiotáctica sobre células endoteliales(38).

Fisiología, génesis y bioquímica de las plaquetas.

Los iniciadores de las plaquetas son los megacariocitos (MKs). Estas células se desarrollan a partir de células progenitoras mieloides multipotenciales CD34⁺ que residen en el tejido hematopoyético y en el torrente sanguíneo, los MKs representan aproximadamente un 0,1-0,5% de las células nucleadas de la médula ósea(13). Este tipo de células se encuentra en la región más profunda de los sinusoides capilares de la médula ósea y emiten unas continuaciones citoplasmáticas (proplaquetas) que están en unión con la sangre; estas continuaciones son seccionadas y las plaquetas son liberadas al torrente sanguíneo. Las plaquetas de los equinos son fragmentaciones citoplasmáticas discoides de 5 – 7 µm de largo y 1 -3 µm de ancho muchas veces se pueden observar plaquetas grandes >20 µm en el torrente sanguíneo(39).

La capa que cubre la membrana de las plaquetas se compone de tres elementos: glicocálix, capa fosfolipídica de distribución asimétrica con propiedades anticoagulantes y un citoesqueleto submembranoso. Se conoce el glicocálix como la capa exterior que contiene receptores glicoproteicos esenciales para la fisiología plaquetaria y están implicados en la activación y adhesión de las plaquetas. Por otro lado el citoesqueleto sostiene la plaqueta en reposo en una forma discoide y permite la adquisición de una forma equinoide después de la activación plaquetaria. Estas glicoproteínas constituyen los antígenos de membrana de las plaquetas, que se dividen en tres familias: integrinas, proteínas ricas en leucina y selectina(40).

Método de obtención.

El PRP se consigue a partir de las plaquetas de la sangre no coagulada como fragmento del coágulo que se activa y se degranula; Existen diferentes protocolos para la obtención de PRP: bypass, aféresis y centrifugado, pero acuerdo a cada autor y a cada sistema, se realiza una obtención diferente, este tipo de técnicas varían en costo la facilidad de obtención, la cantidad de sangre requerido y la concentración de plaquetas obtenido, en el mercado existen diferentes kits desechables para realizar la obtención de PRP. Ciertos autores presentan dos centrifugados otros solo presentan uno y existen distintas variaciones en cuanto al tiempo de centrifugado, como lo pueden expresar distintas investigaciones (41) . Esto se debe principalmente a que mediante una sola centrifugación, los eritrocitos interfieren con la separación de las plaquetas. Este es el principal error que ocurre con las centrifugas convencionales de laboratorio, ya que estas son diseñadas con propósitos diagnósticos y no para la preparación del Plasma Rico en Plaquetas. Estos

dispositivos no producen un rendimiento suficiente y puede lesionar las mismas(42). Valores de PRP por debajo de cuatro veces el nivel basal es un PRP diluido. Según el método utilizado se obtiene entre 3-8 veces el nivel basal(21).

metodo automatizado

Sistema de El sistema de aféresis requiere alta tecnología y personal experimental, se requiere un gran volumen de sangre (>450 ml). Por medio de este sistema se presenta un bajo riesgo de contaminación bacteriana durante la preparación de los APCs (usos de concentrados autólogos de plaquetas) esta técnica ofrece concentraciones plaquetarias que alcanzan valores de 8,9 veces y hasta 14 veces mayor en comparación con la sangre entera, además se ha determinado las concentraciones de ciertos factores de crecimiento como TGF-1. Las limitantes de este método en la practica equina es el costo y disponibilidad de estos equipos (40).

Métodos manual

Mediante el sistema de centrifugación simple en tubo, Anitua, propone el método PRGF System® (BTI Biotechnology institute, Victoria, Spain). Se usa 10 – 20 ml de sangre del paciente, que se extrae en tubos de 5 ml que contienen citrato sódico al 3,8% como anticoagulante. A continuación los tubos son centrifugados a 460 G durante 8 minutos. Tras la centrifugación, la sangre de los tubos queda en el fondo, los linfocitos por encima, el PRGF queda en el medio del tubo; y el plasma pobre en factores de crecimiento (PPGF) se ubica en la parte superior del tubo. De cada uno de los 5 ml se descarta el mililitro más superficial. El plasma restante se aspira y esta fracción es el PRGF, donde las plaquetas contenidas en el aspirado eran activadas usando cloruro de calcio al 10% es una técnica como se describió al principio simple, de bajo costo y practica para obtener una preparación del plasma, con mínimos

volúmenes de sangre, siendo la única técnica que permite la obtención exclusiva de plaquetas, excluyendo los leucocitos(43).

Con el protocolo que se utilizan para obtener el PRP centrifugado, establecen la siguiente secuencia de procesos; mediante diferencia de densidad, se separan las células rojas ($7\mu\text{m}$ de diámetro) y ($7\text{-}15\ \mu\text{m}$ de diámetro) de las plaquetas cuyo tamaño es de $2\ \mu\text{m}$ de diámetro. Cuando se realiza el segundo centrifugado se separan las plaquetas (PPP), este tipo de técnica es un poco más costosa ya que se requiere de la utilización de una centrifuga, el volumen es pequeño y se consigue mayor cantidad de plaquetas. Para la obtención de PRP mediante el sistema de doble centrifugación en tubo, algunos autores, proponen un método manual rápido y simple, usando material de laboratorio y sometiendo la sangre a una doble centrifugación. La sangre se extrae del paciente en tubos de 5 ml con citrato sódico como anticoagulante. Se recomienda que la primera centrifugación se lleve a cabo a 200G durante 10 minutos. Tras transcurrir esa primera centrifugación, el plasma sobrenadante se aspira y se deposita en otro tubo sin anticoagulante, y este se somete a otra centrifugación también a 200G y a 10 min. Tras esta segunda centrifugación, en el fondo del tubo quedara un sedimento plaquetario, que tras ser suspendido en un volumen determinado de plasma residual, constituirá el PRP(44).

La obtención de Plasma Rico en Plaquetas por medio de la técnica bypass es una técnica simple y de bajo costo, el volumen de sangre es pequeño y el PRP se obtiene fácil pero con un concentrado plaquetario bajo. Esto se basa en la recolección de sangre en tubos que contengan citrato de sodio o en bolsas de sangre que deben de contener citrato/ fosfato/ dextrosa/ adenina como anticoagulante (45).

Métodos semiautomáticos

Métodos comerciales

El peligro de contaminación bacteriana del PRP con estos sistemas semiautomáticos comerciales, es mínimo que con el método de obtención mediante centrifugación. Estos sistemas permiten la obtención de un Plasma Rico en Plaquetas con elevadas concentraciones de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento(46). Algunos autores sostienen que la presencia de leucocitos en el concentrado plaquetario puede ir en contra de los procesos de regeneración y reparación tisular(43).

Platelet concéntrate collection System (PCCS® kit): Para preparar el plasma rico en plaquetas en este tipo de métodos, es necesario extraer 60 ml de sangre con anticoagulante “anticoagulant citrate dextrose solution” (ACD-A) . La sangre se centrifuga durante 3 minutos y 45 segundos a 3.000 rpm. Se transfiere el plasma sobrenadante y el conjunto se somete a una segunda centrifugación durante 13 minutos a 3.000 rpm, consiguiendo una sedimentación de las plaquetas. Las plaquetas son resuspendidas en el plasma residual mediante un suave masaje del sedimento plaquetario utilizando los dedos pulgar e índice durante 3 minutos. A esta suspensión se le nombra PRP(47). Este tipo de sistema posee la capacidad de aumentar la concentración plaquetaria. Este tipo de sistemas difieren significativamente en cuanto a recuento trombocitario (10).

- Gravitational platelet separation (GPS® System): Este sistema consiste en una centrifugación y en usar tubos de una sola centrifugación. La preparación del PRP en este tipo de sistemas tarda alrededor de 30 minutos. Se deben tomar 6 ml de anticoagulante ACD-A en una jeringa de 50 ml y posterior se extraen del paciente 54 ml de sangre, se centrifuga durante 12 minutos a 3.200 rpm, en ese momento la sangre se separa en diferentes fracciones de modo que los eritrocitos quedan en la parte inferior, a continuación la capa leucocitaria y en la parte superior queda el plasma pobre en plaquetas (PPP). Con un embolo se

empuja hacia abajo hasta que se separe el PP del PRP. Esta técnica permite conseguir un PRP con una concentración de 1.600 plaquetas/ μ l. Incrementa el recuento de leucocitos en el PRP, hasta llegar a conseguir unos niveles leucocitarios alrededor de 31.000 leucocitos/ μ l. Las concentraciones de factores de crecimiento (FC) en el PRP obtenido son superiores a los presentes en el plasma sanguíneo para todos los factores estudiados excepto para IGF-I(46).

- Smart PReP® System: Este tipo de sistema consiste en dos cámaras de plástico (cámara de sangre y cámara de plasma) unidas e interconectadas entre ellas. En una de las cámaras se deposita la sangre con anticoagulante ACD-A y en otra, tras un proceso de centrifugación de 20 minutos, quedara el PRP teniendo una eficiencia del 63.4% en la extracción de plaquetas. En un estudio realizado, se recolectaron 60 ml de sangre periférica para poder obtener 20 ml de PRP; como resultado se obtuvo 3,77 veces mayor cantidad de plaquetas y una proporción menor de células mononucleares (1,85 menos que la sangre total). La reducción de este tiene una gran importancia clínica, ya que los leucocitos llegan a producir citoquinas inactivadas, teniendo efectos catabólicos *in vivo*(10).
- Plateltex®: este es un sistema simple, con doble centrifugación. La sangre es extraída en tubos de ensayo de 8 ml con ACD-A, la eficiencia de este sistema se acerca al 80%(48).
- Artherex ACP® System: en este tipo de sistema se toma 1 ml de ACD-A y se extraen 9 ml de sangre del paciente con la misma jeringa del anticoagulante, se centrifuga a 1.500 rpm durante 5 min. Tras la centrifugación los eritrocitos quedan en el fondo, después se encuentra la serie blanca y por ultimo quedaría el plasma. Se consigue una concentración de 550.000 plaquetas/ μ l, sin la existencia de leucocitos,

en este sistema se multiplica por 25 la concentración de PDGF –AB (60 ng/ml) y se cuadruplica la concentración de TGF – β 1 (145 ng/ml), en comparación con los valores de sangre periférica(48).

Clasificación del PRP.

Tras la centrifugación, la sangre es fraccionada en tres capas de distinta densidad. En la capa inferior se encuentran los glóbulos rojos, la capa intermedia está compuesta de glóbulos blancos y plaquetas y la capa superior está constituida de plasma. La fase plasmática se puede subdividir en tres secciones en función de la concentración de plaquetas: pobre, intermedia o rica en plaquetas(49).

La composición y el volumen del PRP varían en función de la capa que sea recolectada. Algunos protocolos recolectan toda la capa plasmática, otros las capas plasmáticas con concentración intermedia y rica en plaquetas, y otros protocolos utilizan únicamente glóbulos blancos y plaquetas. En función de su recolección el volumen de PRP variara entre 2-40% del volumen original de la sangre(49,50). El PRP variara dependiendo de cuál de las capas sea recolectada, en este caso, al PRP se le puede clasificar en puro en plaquetas (P-PRP) o rico en plaquetas y también en leucocitos (L-PRP). La presencia de leucocitos en el PRP es una fuente de discusiones ya que los leucocitos liberan sustancias microbicidas y enzimas que podrían favorecer a la destrucción de microorganismos previniendo posibles infecciones, estas sustancias también podrían dañar a las células endógenas encargadas de la preparación y contribuir a procesos de inflamación local(51,52).

El PRP se dividen según su contenido de fibrina y leucocitos. El PRP fue clasificado en cuatro categorías: puro en plaquetas y pobre en leucocitos (P-PRP), rico en plaquetas y leucocitos (L-PRP), rico en plaquetas y fibrina (P-

PRF) y rico en plaquetas, leucocitos y fibrina (L-PRF); el PRF por otra parte debería ayudar a aclarar los éxitos y fallas que han ocurrido hasta ahora. El PRF la sangre se recolecta sin cualquier anticoagulante e inmediatamente se centrifuga con esto se produce un proceso de coagulación natural y permite la fácil recolección de una fibrina rica en leucocitos y plaquetas (L-PRF) coágulo, sin necesidad de ninguna modificación bioquímica de la sangre, es decir, sin anticoagulantes, trombina o cloruro de calcio(50,53).

Métodos de activación del PRP

Para que se consiga las ventajas que brinda el PRP, este debe de activarse. Las plaquetas deben liberar gránulos citoplasmáticos, que son los que contienen los factores de crecimiento (FC) y los metabolitos activos. Hay diversas formas de activación del PRP:

- Congelación, consiste en congelar y descongelar el plasma. Cuando se congelan las plaquetas se lisan y liberan los factores de crecimiento presentes en ellas.
- Sonificación, se debe aplicar ultrasonidos a la suspensión celular, destruyendo las membranas celulares.
- La ozonización del plasma promueve la agregación plaquetaria acentuando la liberación de los factores de crecimiento. con una jeringa que contenga ozono se aspira el plasma en la misma jeringa, procediendo a la infiltración con el ozono y el PRP.
- Adición de sustancias.
 - Gel de fibrina, que actúa como malla para permitir el avance de los factores de crecimiento.
 - Cloruro de calcio (CaCl_2), es una de las técnicas más utilizadas por los médicos veterinarios hoy en día; se debe añadir 50 $\mu\text{l/ml}$ de plasma, para activar las plaquetas y coagular el fibrinógeno, de manera que el plasma inicia una fase dinámica de coagulación, que finaliza con la retracción del coagulo (14,42).

Derivado del PRP

El gel de PRP se conoce como una concentración autóloga de plaquetas en un pequeño volumen de plasma con el fin de mejorar la integración de injertos, ya sean óseos, cutáneos, cartilaginosos o de grasa y acelerar la cicatrización de las heridas y quemaduras en los pacientes equinos. Las proteínas osteoconductoras sirven como matriz para la migración al epitelio, ayudando a la formación ósea. Las lesiones tratadas con gel de PRP demuestra un alto porcentaje en la regeneración epitelial y producción de tejidos organizados en heridas tegumentarias, reparación, fibrosis inducida y probablemente cierta actividad antibacteriana en equinos con quemaduras de segundo grado. El PRP al ser un hemoderivado autógeno, acelera los procesos cicatrízales. Ha sido estudiado en la medicina equina con excelentes resultados, utilizándose principalmente en enfermedades como la tendinitis, osteoartritis y cicatrización de heridas, pero uno de los limitantes de estas terapias es el uso tópico(19).

Este tipo de terapia a sido ampliamente utilizado en la medicina regenerativa desde la década de 1980; pero limitadamente en cirugías cardíacas, cuidado de heridas, cirugías plásticas, cirugías maxilofacial y odontología (20).

Morfofisiología de los tendones equinos

La anatomía de los tendones de los equinos puede modificarse entre los miembros anteriores y posteriores y entre los distintos caballos, en la parte distal los miembros son muy similares, se pueden observar tres partes anatómicas principales en cada extremidad: Tendón flexor digital superficial (TFDS) y su ligamento accesorio (AL-TFDS), flexor digital profundo (TFDP) con

sus ligamentos accesorios (AL-TFDS) y el aparato suspensorio (AS), compuesto por el tercer musculo interóseo, el escudo proximal, los ligamentos sesamoideos distales (LsDS) y la brida extensora(54) el tendón flexor digital superficial tiene como función principal flexionar la articulación del menudillo cuando se contrae y sostiene la articulación en su ángulo normal; en el miembro anterior, se encuentra el ligamento accesorio del TFDS y su función es evitar que se realice un estiramiento excesivo de la unión musculo tendinosa. El TFDP, actúa cuando el musculo se contrae este flexiona las articulaciones del dedo y del menudillo; al igual que el TDFS. El tendón profundo también cuenta con un ligamento accesorio el cual ayuda a prevenir un excesivo estiramiento del tendón. La vaina sinovial común de los músculos flexores, es una capa de fibra gruesa que protege las estructuras óseas, tiene una membrana sinovial la cual es responsable de remover detritos, propiedades inflamatorias y producción de líquido sinovial; la vaina sinovial es importante para el desplazamiento del tendón sobre las protuberancias ósea(55).

Los tendones y las articulaciones son estructuras parecidas desde el punto ultraestructural, los tendones son bandas de tejido conectivo fibroso que articulan los músculos al hueso, de esta manera se crea una contracción muscular para formar locomoción; están constituidos por unas fascículas que pueden variar de tamaño, forma y funcionan de manera autónoma. Estos órganos están compuestos de fibras de colágeno, con una matriz de proteoglicanos, glicoproteínas, fibras elásticas, electrolitos y agua. Microscópicamente los tendones presentan microestructuras de tejido conectivo denso que conecta el vientre muscular a un elemento esquelético distal, llamados unión miotendinosa y osteotendinosa (56); las células con mayor frecuencia en los tendones son los fibroblastos que están ubicados en forma paralela a las fibras de colágeno; el componente fibroso que da fuerza tensil al tendón y al ligamento está compuesto de elastina y colágeno en un 70% del peso del tendón. El tropocolágeno como molécula del colágeno está

formada por tres cadenas de polipéptidos enrollados hacia la derecha en forma de superhelice. En los tendones y ligamentos existe una gran porción de colágeno tipo I, adicional a esto se pueden encontrar grandes cantidades de colágeno tipo II, ubicado en las zonas donde el tendón y el ligamento sufren una compresión metacarpiana o su paso entre los huesos sesamoideos, por otro lado el colágeno tipo III predomina después de las lesiones y traumatismos en procesos regenerativos. Los tendones también son infiltrados por pequeños vasos sanguíneos que recorren los espacios interfasciculares de las fibras de colágeno. La vascularización normal de los tendones favorece el transporte de nutrientes, enzimas proteolíticas, mediadores de la inflamación, entre otros. No obstante las articulaciones interfalángicas distales son las más afectadas especialmente por la orientación y manejo del casco en el momento del herraje y recorte del mismo (57). La unión de menor importancia en la clínica equina es la miotendinosa a causa de la baja incidencia de afecciones tendíneas en esa región, en donde las tensiones creadas por las fibras musculares se transfieren desde las proteínas intracelulares contráctiles a las proteínas del tejido conectivo extracelular, por otro lado la unión osteotendinosa ocupa un lugar clave en muchas de las tendinopatías presentes en los equinos de deporte, es una región especializada donde el tendón viscoelástico transmite la fuerza a una estructura ósea más rígida(30).

Lesiones más comunes en equinos.

Tendinopatias

Las lesiones en los tendones, denominadas “tendinosis” se presenta en los humanos en los deportistas de alto rendimiento y animales particularmente en los equinos de deporte, este tipo de lesiones son más comunes en equinos que compiten a alta velocidad o saltan. La mayoría de las veces se produce en animales que están entrando al periodo de entrenamiento o competición sin un

condicionamiento apropiado (training), esta lesión pueden llegar a disminuir las capacidades y su rendimiento en las campañas deportivas; el diagnóstico de una lesión tendinosa se realiza por observación directa del paciente, pudiéndose apreciar un aumento de tamaño en el área de la lesión con presencia de un dolor progresivo y limitación funcional, al momento de la palpación se puede presentar dolor. Otro de los diagnósticos utilizados, es la realización de bloqueos anestésicos perineurales (en caso de existir una claudicación concomitante, estas lesiones responden al bloqueo cuatro puntos alto, en el que se bloquean los nervios digitales palmares lateral y medial, y los metacarpianos lateral y medial). Un diagnóstico más seguro se obtendrá por medio de la ecografía de los tendones, que son estructuras muy superficiales y con gran nitidez. A la ecografía se puede observar la inflamación (la estructura del tendón engrosada y con espesor mayor al normal) y presencia de edema (la ecogenicidad del tendón aparece disminuida por la presencia de líquido anecogenico entre las fibras tendinosas) (45,46).

Durante una lesión musculo – tendinosa varios tendones pueden ser afectados, una tendinitis, entre las diferentes tendinopatias que sufren los tendones de los equinos, la más frecuente es la que se origina como resultado de una inflamación ya sea causada por una inflamación primaria o secundaria de los tendones, de esta manera se denomina “tendinitis” a un proceso inflamatorio agudo o crónico, que llega a sufrir el tendón sin hacer mención a su posible etología; la tenosinovitis se denomina al proceso inflamatorio que tiene el tendón y la vaina sinovial tendinosa (59) una tendinitis representa la infalible muerte de la carrera deportiva de un equino. Esta lesión es de gran dificultad para tratarse, la tendinitis más común en los equinos son la del flexor digital superficial (TFDS), este tipo de lesiones se puede evidenciar en los equinos más jóvenes y la incidencia de una nueva lesión es relativamente alta(57).

Estos curan muy lentamente y el tejido restaurado no tiene la misma elasticidad y fuerza que el tejido original. Uno de los primordiales inconvenientes

relacionados con las tendinopatias y desmopatias del equino es la elección del tratamiento. Muchos de los problemas a los que se enfrentan los médicos veterinarios es tomar decisiones terapéuticas basadas en sus experiencias clínicas y pocas en el conocimiento actual de la fisiopatología de los tendones y ligamentos lesionados. Los mecanismos naturales no permiten que el tejido lesionado se recupere completamente. Los equinos afectados con esta lesión tienden a recaer en la lesión en un 80% (60).

En los casos de tendinopatias y desmopatias agudas se realizan tratamientos con fármacos combinados con reposo, hidroterapia y vendajes a presión, en fase subaguda de la tendinopatía del tendón flexor digital superficial (TDFS) se utiliza fumarato de β -aminopropionitrilo (BAPN), combinado con monitorización ecográfica de la lesión y un programa de ejercicio controlado. En casos crónicos, cuando los tratamientos fracasan, el médico veterinario puede recurrir a otros procedimientos como la cirugía (57). Durante estas lesiones se pueden realizar tratamientos con ondas de choque, termografía y laser frio. La utilización de corticosteroides (CS) como tratamiento de este tipo de lesiones es un tema controversial entre los clínicos. Existe información donde no se aconseja el uso de este tratamiento por el alto porcentaje de que el tendón sufra rupturas. En casos donde estos tratamientos fracasen, el clínico puede elegir la cirugía o tratamientos convencionales como los puntos de fuego (no justificados), en el caso de las tendinopatias. Durante los últimos años se han venido estableciendo diferentes tratamientos a nivel molecular con varios procesos bioquímicos relacionados con la fisiopatología de las lesiones, debido a la deficiencia de los tratamientos convencionales se han abierto las puertas para la utilización de terapias regenerativas (61). Dadas las características de la patología y de sus implicaciones en el desempeño del deportista, la tendinitis necesita un conocimiento preciso y amplio para realizar un enfoque terapéutico adecuado.

Desmitis

El ligamento suspensorio degenerativo desmitis (DSLDD) es un trastorno progresivo que afecta principalmente al ligamento suspensorio en las diferentes razas equinos. Es un deterioro progresivo que afecta principalmente los ligamentos suspensorios y tendones flexores que lleva al deportista a presentar claudicaciones y producir dolor, la implicación de las extremidades es frecuentemente bilateral(62). Los tendones y ligamentos se lesionan cuando la carga supera la fuerza en combinación con el grupo de fibras, es donde, en este tipo de casos el ligamento suspensorio se ve afectado por la sobre extensión del menudillo durante la carga de peso máximo que se produce en el medio de la fase de apoyo del paso o salto; normalmente este daño implica desgarro o ruptura de fibras individuales o del haz de fibras, el grado de la lesión depende de la cantidad de fibras desgarradas; durante una lesión aguda se presenta calor, inflamación, dolor a la palpación y la claudicación puede llegar a variar de leve a grave. Puede ser una lesión transitoria o persistente, cuando se presenta una lesión crónica se evidencia un engrosamiento persistente del ligamento y una claudicación intermitente o persistente del paciente. Las desmopatías del ligamento suspensorio en los miembros anteriores son más frecuentes en los equinos de carreras, mientras que la presencia de una desmitis de ligamento suspensorio en los miembros posteriores se presenta con mayor frecuencia en los equinos trotadores, la desmitis bilateral del ligamento suspensorio de miembros anteriores puede llegar a presentarse en el 31% de los equinos afectados, el mismo trastorno en los miembros posteriores se puede presentar con un 20% de los equinos afectados ya que la lesión de un tendón o ligamento dependerá en gran medida de la carga funcional de estas estructuras en los diferentes pasos o aires y en asociación con diferentes demandas locomotoras puesto que las fuerzas impuestas sobre el tendón y el ligamento son modificadas por el tipo de actividad que realiza el equino, el gradiente del terreno, la superficie, tipo de herraje y la condición corporal del equino; en general los equinos que sufren de

una desmitis del ligamento suspensorio en los miembros anteriores puede retomar su entrenamiento después de un tiempo de reposo y ejercicio controlado durante un determinado tiempo(63).

La desmitis del ligamento suspensorio está relacionada a un proceso crónico, algunas lesiones tardan mucho tiempo en recuperarse y algunos equinos no regresan a su nivel de ejercicio y trabajo normal, hasta terminar una completa recuperación de 9 meses desde haber sufrido la lesión; después de una lesión de tendón y ligamento la cicatrización es lenta y no se vuelve a recuperar las características biomecánicas originales, al momento en que un equino haya sufrido una desmitis es muy probable que la lesión se vuelva a repetir en un nivel semejante a la anterior lesión o aun con mayores consecuencias de esta manera es importante considerar que se producen cambios biomecánicos y celulares tales como la expresión de citoquinas catabólicas, una activación exagerada de metaloproteinasas de la matriz, apoptosis celular, proliferación de miofibroblastos al momento de la lesión, estos producen un impacto negativo estructural y funcional sobre el tendón y el ligamento que con el tiempo termina en una lesión clínica(56).

El diagnóstico de las lesiones de tendón y ligamentos es por medio de distintos métodos clínicos, el más utilizado en la práctica veterinaria y como método de oro, es la ecografía puesto que es una herramienta útil para realizar un diagnóstico de lesiones del ligamento suspensorio, las lesiones que se producen en el origen o en la parte proximal del ligamento son difíciles de detectar ya que se encuentran bajo los tendones flexores digitales. Estas lesiones se pueden presentar en una claudicación leve o bien intermitente del miembro, se presenta calor e inflamación. Las lesiones que se presentan en el cuerpo de ligamento suspensorio son más comunes en los miembros anteriores como se había descrito anteriormente y se manifiesta con calor, inflamación y un marcado dolor al momento de la palpación la claudicación no es evidente al principio pero a medida que progresa la lesión los signos clínicos

son más continuos y evidentes. La desmitis de esta porción del ligamento suspensorio suele convertirse en una lesión crónica por la capacidad del equino para seguir realizando ejercicio a pesar de mantener la lesión(64).

La radiografía es otro de los métodos usados para revelar anormalidades óseas asociadas con el ligamento suspensorio en el tercer hueso metacarpiano; proyecciones dorso palmar horizontal, latero medial y oblicuas pueden proporcionar información sobre alguna alteración en el ligamento o sobre la región metacarpiana proximal; estas radiografías pueden identificar alteraciones en el ligamento suspensorio basadas en los signos clínicos y en bloqueos nerviosos (64).

Tratamiento de lesiones degenerativas de tendones y ligamentos

Muchas modalidades terapéuticas se han utilizado para facilitar la curación de estas lesiones, en la actualidad no hay tratamientos que permitan la resolución de manera rápida, eficaz y que genere una restauración del tejido a sus características originales (61). En los últimos años sea presentado un incremento en el uso de preparados autólogos donde el tratamiento aporta factores de crecimiento al tejido lesionado; como los aspirados de medula ósea y plasma rico en plaquetas (PRP), que se destacan entre los clínicos por su fácil obtención y los excelentes resultados que han tenido en el momento de la aplicación del PRP(28) .

Durante los últimos años estudios manifiestan la efectividad del procedimiento, no obstante todavía hay ciertos desconocimientos en cuanto a la reparación de las lesiones, no solo es más rápida (con menos tiempos de recuperación). Pero con ventajas al momento de manejar un material más cercano al original; por lo que todavía no se ha determinado si se produce un proceso de reparación o de regeneración. Las lesiones que son manejadas con programas de

rehabilitación, cirugías o periodos de reposo prolongado usualmente fracasan en restaurar las características morfológicas y funcionales de los tendones. Estudios establecen que el porcentaje de reincidencia de las lesiones del TFDS de los miembros anteriores del equino es del 53% (60).

Estos problemas se deben al bajo cuidado de los equinos y que muchos de estos son reintegrados al ejercicio y al trabajo antes de una apropiada recuperación, donde un correcto diagnóstico de la lesión del tendón y un cuidadoso seguimiento durante el tratamiento llega a formar una buena rehabilitación para el equino(57).

Las terapias que actualmente se utilizan están basadas en los principios de descritos por Asheim en 1964, que incluye la refrigeración, el uso de vendajes de compresión y descanso. Estos protocolos contribuyen a la funcionalidad de los actuales tratamientos, sin embargo tienen un éxito limitado ya que la devolución de los pacientes a su nivel de rendimiento normal en sus trabajos no es el mismo, por tanto, solo constituye una ayuda para la disminuir la posibilidad de un mayor daño.

Los objetivos del método pueden reducirse en 5 puntos:

- Disminuir el dolor.
- Disminución de la inflamación.
- Favorecer la cicatrización.
- Rehabilitación.
- Retorno del equino a su entrenamiento.

En la mayoría de los equinos con tendinitis aguda del TFDS las primeras terapias a utilizar son antiinflamatorios y un manejo de soporte del animal. Dentro de los más utilizados esta la aplicación de fenilbutazona en dosis de 4,4 mg/kg/día por unos 7 días; a criterio del médico veterinario se puede utilizar una dosis única de dexametasona con una dosis de 0,04 mg/kg a veces aplicaciones perilesionales de triamcinolona o metilprednisolona, hay que

enfaticar que la utilización de corticoides intralesionales, sobre todo los de depósito o de larga acción se consideran contraindicados por sus propiedades catabólicas y los desbalances negativos que generan en la producción de colágeno(57).

Independiente de la terapia analgésica utilizada en la lesión del equino es importante evaluar el progreso por medio de ecografías regulares para probar la evaluación de la cicatrización en el proceso de rehabilitación, los tendones y ligamentos lesionados deben evidenciar un progreso en tamaño, ecogenicidad y patrón de fibra en cada examen realizado por el médico veterinario; uno de los puntos más importante en la recuperación del rendimiento atlético por lesión del ligamento es minimizar la cantidad de daño en la estructura para evitar que se provoque un desgarro, el segundo punto es comenzar con una terapia antiinflamatoria de efecto inmediato, el último punto para la cicatrización del tendón y ligamento se produce de manera lenta durante un periodo largo de tiempo ya que estas estructuras anatómicas son de escasa vascularización y tiene un aporte sanguíneo bajo donde los tejidos no son capaces de recuperar la lesión(55).

Tratamiento quirúrgico para la desmitis del ligamento suspensorio, pero como es bien sabido el descanso es el tratamiento más frecuente en este tipo de lesiones, la mayor recuperación sin ninguna recaída incluye un reposo absoluto durante un mes controlado el inicio y aumento de forma gradual las caminatas con intervalos de descanso. La fasciotomía quirúrgica sea utilizado en casos de desmitis de ligamento suspensorio, este tipo de cirugía es efectiva para las lesiones que no tuvieron una reparación exitosa durante los 3 meses de descanso, la mayoría de lesiones que se intervienen quirúrgicamente son en el origen del ligamento suspensorio o en su inserción en el hueso sesamoideo proximal. El cuidado postoperatorio en los ligamentos no requiere de mucho tiempo para sanar, las lesiones de las ramas suspensorias se recuperan entre tres a seis meses, las lesiones en la inserción del ligamento suspensorio y en el

origen requieren de mínimo seis meses a un año antes de que el equino recupere su estado de ejercicio completo(65).

Terapia con Plasma rico en plaquetas

Las plaquetas (PLTs) en las tendinopatias (principalmente) del tendón flexor digital superficial, osteoartritis y desmopatias. desempeñan un papel significativo en la cicatrización de las heridas, ya que poseen propiedades hemostáticas, proinflamatorias, reguladoras, y acciones regenerativas, las cuales están intervenidas por la interacción con células(30). En medicina equina el PRP se ha venido utilizando para el tratamiento de heridas en las extremidades y enfermedades musculoesqueleticas.

Las plaquetas participan en todo el proceso de reparación y regeneración de los tejidos. Tras un daño tisular se produce una extravasación de células sanguíneas que acaban produciendo un coagulo y la degranulación de las plaquetas que lo constituyen(43). Existen estirpes celulares capaces de producir factores de crecimiento, como son las células inflamatorias, células epiteliales, células del endotelio vascular y fibroblastos.

Estudios recientes hacen referencia a los excelentes resultados que se han obtenido desde uso de concentrados autólogos logrando que el 80% de los equinos tratados con este tratamiento retomen una vida deportiva normal, el 30% de los equinos tratados con tratamientos convencionales, tienen una tasa de reincidencia de la mitad.

Un estudio realizado con 72 caballos con lesión del tendón flexor digital superficial muestran una mejoría del 80% vs el 45% del grupo control (n=9) , con una recaída del 22% de los casos. En el mismo estudio se observó que los 10 equinos con distintos grados de afección del tendón flexor digital profundo

presentaron una mejoría clínica y ecográfica del 100% en comparación con el 0% del grupo control (n=4) y teniendo una reincidencia del 17% de los equinos tratados con PRP(30).

Otro estudio realizado con PRP en un pequeño número de caballos con afecciones tendinosas y ligamentosas. Los pacientes de ese estudio presentaron una mejoría clínica y ecográfica, en el estudio se incluyó un bajo número de pacientes (n = 5) y no contaban con grupo control. Sin embargo, el tratamiento fue seguro, ya que las inyecciones de PRP no indujeron reacciones adversas en los caballos tratados. En otro estudio realizado con PRP (obtenido mediante un método semiautomatizado) en 9 caballos de carreras con una desmitis moderada o severa del cuerpo del ligamento suspensorio entraron a un programa de ejercicio controlado como tratamiento después de inducir Plasma Rico en Plaquetas en la lesión. Los pacientes alcanzaron su nivel atlético entre 6,5 – 17 meses poslesión y corrieron consecutivamente durante dos años. Sin embargo, en ese estudio no había grupo control(40).

Materiales y métodos

Se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura en las bases de datos (Scielo, Google académico, Science direct, PubMed, Springer, Scopus, World Wide Sciencie) con el fin de identificar estudios que evalúen la eficacia del tratamiento del (PRP) en equinos de deporte. Palabras de búsqueda y recopilación de la información: “Plasma rico en plaquetas” “equinos” “tendinopatias” “osteoartritis” “cojera” “células madre” “medicina regenerativa”, se tuvieron en cuenta en esta revisión los estudios que se realizaron en los últimos ocho años.

Conclusiones

- El Plasma Rico en Plaquetas se emplea en la medicina regenerativa para tratar diferentes lesiones musculoesqueleticas en los equinos como: quemaduras, reparación muscular, ósea y recuperación tisular.
- Esta terapia presenta excelentes resultados en lesiones ubicadas en áreas de poca vascularización como tendones y articulaciones de la parte distal de los miembros anteriores y posteriores del equino, gracias a la acción aceleradora y regenerativa de los factores de crecimiento celular que posee el PRP.
- En los casos específicos de equinos con lesiones del tendón flexor digital superficial (TFDS) tratadas con PRP, el 80% de los casos recuperan su actividad deportiva, mientras que los equinos tratados convencionalmente tienen menos probabilidad de retomar su actividad deportiva
- La eficacia del PRP va ligado al sistema de obtención -manual, semiautomatizado o automatizado, siendo el sistema de aféresis el que garantiza mejor la calidad del PRP y muestra mayores beneficios en la regeneración de lesiones.
- A pesar de las diferentes aplicaciones que tiene el tratamiento, existen diversas controversias acerca del uso del PRP en regeneración de tendones y articulaciones, debido a que en la actualidad existen pocos estudios enfocados al uso de PRP en la regeneración de tendones y rehabilitación de equinos.
- Se recomienda ampliar los estudios sobre la efectividad de la terapia con PRP en diferentes lesiones y especies.
- Se recomienda evaluar la sinergia de los factores de crecimiento en condiciones *in vivo* e *in vitro*.

Agradecimientos

A mis padres por haberme proporcionado la mejor educación, porque gracias a su esfuerzo, apoyo, dedicación y constancia he logrado terminar mi carrera

profesional. La cual constituye la herencia mas valiosa que pude haber recibido. A mis abuelos por su acompañamiento, sus palabras de aliento y consejos.

A mis primos por todo el apoyo que me brindaron durante mi transcurso en la carrera, por la confianza depositada en mi; a mi tío por creer siempre en mi y apoyarme en todo momento durante la carrera.

A la profesora Lyda Cenobia Caballero Méndez por creer en mi, brindarme su ayuda y conocimiento en la realización de esta monografía, por su dedicación como asesora y profesional.

A todas aquellas personas que realizaron parte de este proceso de enseñanza profesores y amigos.

A Dios por brindarme sus bendiciones para llegar hasta donde he llegado, porque hizo realidad este sueño.

Bibliografía

1. Mondino A, Yaneselli K, Ferreira O, Maisonnave J. deportivo Successful PRP and fibrin glue application on a clinical case in an equine Resumen Introducción. 2016;10–7.
2. Reghini MFS, Ramires Neto C, Segabinazzi LG, Castro Chaves MMB, Dell'Aqua C de PF, Bussiere MCC, et al. Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology*. 2015;86(2):516–22.
3. Douglas L, Veloz IG. Medicina regenerativa . *Medicina (B Aires)* [Internet]. 2007;9(36):130–40. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/meduni/mu-2007/mu073g.pdf%5Cnhttp://inscripciones.adeit-uv.es/econgres/bioval/MedicinaRegenerativa.pdf>
4. Arnoczky SP, Delos D, Rodeo SA. What Is Platelet-Rich Plasma? *Oper Tech Sports Med* [Internet]. 2011;19(3):142–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.otsm.2010.12.001>
5. Sáez-Torres Barroso J; Gayà Puig, A. CCB. Calidad del plasma rico en plaquetas: estudio de la activación plaquetaria. *Rev esp cir oral maxilofac*. 2007;29(4):240–8.
6. Oleza IA de. La Terapia De Lesiones De Tejidos Blandos Y

Articulaciones Con Plasma Rico En Plaquetas En Caballos De Deporte: Evidencias Clínicas Y Bioquímicas Que Validan Su Utilización. Facultat de Veterinària Universitat Autònoma de Barcelona. 2009. 1-250 p.

7. Brossi PM, Moreira JJ, Machado TSL, Baccarin RYA. Platelet-rich plasma in orthopedic therapy: A comparative systematic review of clinical and experimental data in equine and human musculoskeletal lesions. *BMC Vet Res* [Internet]. 2015;11(1):1–17. Available from: ???
8. Fj V, Romero A. MEDICINA REGENERATIVA: APLICACIÓN EN LA CLÍNICA EQUINA. 2012;38–47.
9. Fantini P, Palhares MS, Prades M, Macedo VC, Silva Filho JM, Leme FOP, et al. Criopreservação do plasma rico em plaquetas de equinos. *Arq Bras Med Vet e Zootec*. 2016;68(1):73–81.
10. Vendruscolo CP, Carvalho A de M, Moraes LF, Maia L, Queiroz DL, Watanabe MJ, et al. Avaliação da eficácia de diferentes protocolos de preparo do Plasma Rico em Plaquetas para uso em Medicina Equina. *Pesqui Vet Bras*. 2012;32(2):106–10.
11. Franklin SL, Maffuli N, Morrey ME. The use of platelet-rich plasma for percutaneous treatment of tendinopathies. *Oper Tech Orthop* [Internet]. 2013;23(2):63–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.oto.2013.05.004>
12. C CP. Las plaquetas- su morfología, fisiología y patología consideraciones sobre las enfermedades hemorrágicas y trombóticas.pdf. 1997.
13. Fernández-Delgado N, Hernández-Ramírez P, Forrellat-Barrios M. Platelet functional spectrum: from hemostasis to regenerative medicine. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter*. 2012;28(3):200–16.
14. Adriana Schwartz¹, Gregorio Martínez- Sánchez² LR. FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE PLAQUETAS Y SUS APLICACIONES EN MEDICINA REGENERATIVA. :27–44.
15. Al R, Nabhan G. Riscos E Benefícios Do Uso De Plasma Rico Em Plaquetas Em Implantologia Oral. 2017;
16. López R, Buendía M, González E. Plasma rico en factores de crecimiento en cirugía bucal: Presentación de caso clínico. *Rev Odontológica Mex* [Internet]. 2005;9(3):141–6. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/odon/uo-2005/uo053f.pdf%0Ahttp://www.revistas.unam.mx/index.php/rom/article/view/15980>
17. Fernández López RG. Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PDGF). *Rev Odontológica Mexicana*. 2005;9(3):141–6.
18. Boss. R. W. You Are Viewing A Preview Page of the Full ArticleThe article found is from the Gale Academic OneFile. 2003;6(May):6–7.
19. Bonfá AF, Nomura RHC, Prado AMB do, Silveira AB da, Dornbusch LPTC, Dornbusch PT. Efeito Do Gel De Plasma Rico Em Plaquetas Na Cicatrização De Enxertos Cutâneos Em Equinos. *Ciência Anim Bras* [Internet]. 2017;18(0):1–12. Available from:

- http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-68912017000100314&lng=pt&tlng=pt
20. Hauschild G, Geburek F, Gosheger G, Eveslage M, Serrano D, Streitbürger A, et al. Short term storage stability at room temperature of two different platelet-rich plasma preparations from equine donors and potential impact on growth factor concentrations. *BMC Vet Res*. 2017;13(1):1–9.
 21. Carrasco J, Bonete D, Gomar F. Plasma rico en plaquetas vs. plasma rico en factores de crecimiento. *Rev española cirugía Osteoartic [Internet]*. 2009;46(239):127–40. Available from: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3080924>
 22. Carmona JU, Ríos E, Vilar JM, Giraldo CE, López C. Effect of two anticoagulants on the cell count and platelet activation parameters from bovine platelet rich plasma | Efectos de dos anticoagulantes sobre el conteo celular y parámetros de activación plaquetaria de plasma rico en plaquetas de bovinos. *Arch Med Vet [Internet]*. 2014;346:341–6. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84921346313&partnerID=MN8TOARS>
 23. Lansdown DA, Fortier LA. Platelet-Rich Plasma: Formulations, Preparations, Constituents, and Their Effects. *Oper Tech Sports Med [Internet]*. 2017;25(1):7–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.otsm.2016.12.002>
 24. Bascones A. Plasma rico en plaquetas . Una revisión bibliográfica. 2007;39–52.
 25. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008;16(5):585–601.
 26. José A, Hernández J. Plasma rico en factores de crecimiento en el tratamiento de desórdenes articulares. Revisión sistemática de la literatura. Tesis Espec. 2017;
 27. Autónoma U, Antonio A, Laguna U. Universidad autónoma agraria “antonio narro” unidad laguna departamento de ciencias medico veterinarias. 2010;
 28. Maia L, de Souza MV, Ribeiro Júnior JI, de Oliveira AC, Alves GES, dos Anjos Benjamin L, et al. Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Induced Tendinopathy in Horses: Histologic Evaluation. *J Equine Vet Sci*. 2009;29(8):618–26.
 29. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology [Internet]*. 1998;85(6):638–46. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1079210498900294>
 30. Utilidad AY, Tendinopatias EN, La EN, Clinica P. Terapias regenerativas alternativas: versatilidad de uso, alcances y utilidad en tendinopatias en la practica clinica equina. 2015;3(4):14–29.
 31. Socioeconómicas DDC, Técnico A. Universidad Autónoma Agraria “ Antonio Narro .” 2006;1–38.

32. Carmona JU, Argüelles D, Prades M. Niveles de factor de crecimiento transformante beta-3 y óxido nítrico en cuatro concentrados autólogos de plaquetas y plasma derivados de sangre equina. *Arch Med Vet*. 2008;40(2):155–60.
33. Vinatier C, Mrugala D, Jorgensen C, Guicheux J, Noël D. Cartilage engineering: a crucial combination of cells, biomaterials and biofactors. *Trends Biotechnol*. 2009;27(5):307–14.
34. Albarova JG. Materiales para la reparación y sustitución ósea: factores de crecimiento y terapia genética en cirugía ortopédica y traumatología. Mapfre ... [Internet]. 2003;(January 2003). Available from: <http://europa.sim.ucm.es/compludoc/AA?articuloid=203004>
35. Danišovič L, Varga I, Polák Š. Growth factors and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Tissue Cell*. 2012;44(2):69–73.
36. Fernández López RG. Plasma Rico en Factores de Crecimiento. *Rev Odontológica Meicana*. 2005;9(3):141–6.
37. Freyre Bernal SI. Papel de Sistema de Factores de Crecimiento Similares a la Indulina (IGF) en la Regulacion y Diferenciación Trofoblastica. 2010;76.
38. Rodríguez Flores J, Palomar Gallego MA, Torres García-Denche J. Plasma rico en plaquetas: Fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac*. 2012;34(1):8–17.
39. Hartwig J, Italiano J. The birth of the platelet. *J Thromb Haemost*. 2003;1(7):1580–6.
40. Carmona JU, López C, Giraldo CE. Uso de concentrados autólogos de plaquetas como terapia regenerativa de enfermedades crónicas del aparato musculoesquelético equino. *Arch Med Vet*. 2011;43(1):1–10.
41. Pereira R, Zacarias G. Evaluation of seven platelet-rich plasma processing protocols in the equine species. *Ciência Rural* [Internet]. 2013;3(6):1122–7. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=01038478&AN=88995469&h=hTwilRh%2Bi0z5uenowORxJMvN6ZImL2gNtV6ttRrWg2%2Be0qw9AqJ0NYs9x%2B2UDz0fbTFD90zrPMCFep50wv%2FD9g%3D%3D&crl=c%5Cnhttp://www.scielo.br/sci>
42. Giménez D. Estudio experimental sobre la influencia del plasma rico en factores de crecimiento en la concentración sérica del factor de crecimiento insulínico tipo I y la proteína C-reactiva en la especie canina.
43. Eduardo Anitua, MD D. The Use of PRGF in Oral Surgery.pdf. 2001.
44. Landesberg R, Roy M. Quantification of Growth Factor Levels Using a Simplified Method of Platelet-Rich Plasma Gel Preparation. 2000;297–300.
45. Valadez Báez XL, Hernández Santos JR, Tenopala Villegas S, Canseco Aguilar CP, Torres Huertas JC. Método óptimo para la obtención de plasma rico en plaquetas en el Servicio de Clínica del Dolor del Centro Médico Nacional de Noviembre ISSSTE. *Rev la Soc Española del Dolor*

- [Internet]. 2016;23(4):175–80. Available from:
http://gestoreditorial.resed.es/DOI/PDF/ArticuloDOI_3419.pdf
46. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: Implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2004;114(6):1502–8.
 47. Weibrich G, Kleis WKG, Buch R, Hitzler WE, Hafner G. The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schutze platelet-rich plasma kit. Comparison of a semiautomatic method with a more complex method for the preparation of platelet concentrates. *Clin Oral Implants Res* [Internet]. 2003;14:233–9. Available from: <http://www.blackwell-synergy.com/links/doi/10.1034/j.1600-0501.2003.140215.x>
 48. Dios N, Alexander CF. estudio comparativo de las tecnicas quirurgicas, TTA clasica Securos, TTA Porous y TTA Porous con PRP, para el tratamiento de la rotura del ligamento cruzado anterior en el perro.
 49. Dhurat R, Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *J Cutan Aesthet Surg* [Internet]. 2014;7(4):189. Available from:
<http://www.jcasonline.com/text.asp?2014/7/4/189/150734>
 50. Etulain D. Artículos de Revisión PRP en medicina regenerativa : fundamento biológico , preparación y clasificación . 2017;XLIII:357–63.
 51. Xu Z, Yin W, Zhang Y, Qi X, Chen Y, Xie X, et al. Comparative evaluation of leukocyte-and platelet-rich plasma and pure platelet-rich plasma for cartilage regeneration. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(March):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep43301>
 52. D'asta F, Halstead F, Harrison P, Zecchi Orlandini S, Moiemmen N, Lord J. The contribution of leucocytes to the antimicrobial activity of platelet-rich plasma preparations: A systematic review. *Platelets* [Internet]. 2018;29(1):9–20. Available from:
<https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1317731>
 53. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3):158–67.
 54. España DLEM y AS. EVALUACIÓN DE UN NUEVO PROTOCOLO PARA CONCENTRAR PLAQUETAS EQUINAS, EN EL LABORATORIO CLÍNICO. 2013;4(1):15–21.
 55. Agropecuarias C. TERAPÉUTICA PARA LA DESMITIS DE LIGAMENTO SUSPENSORIO EN MIEMBROS ANTERIORES EN EQUINOS. 2015;1–44.
 56. Carmona JU, López C. Tendinopatía del tendón flexor digital superficial y desmopatía del ligamento suspensorio en caballos: Fisiopatología y terapias regenerativas. *Arch Med Vet*. 2011;43(3):203–14.
 57. Hernández HO. " Tendinitis Equina : Revisión De Casos Clínicos Tratados Con Plasma Rico En Plaquetas " Casos Clínicos Tratados Con Plasma Rico En Plaquetas ". 2012;1–45.

58. Alvaro Fernández Manzano*, Marta Varela del Arco** ISL. FACTORES DE CRECIMIENTO PLAQUETARIOS EN EL TRATAMIENTO DE LA TENDINITIS DEL TENDÓN FLEXOR DIGITAL SUPERFICIAL DE UN CABALLO DE CARRERAS. 2009;3(2):253–60.
59. Geaney LE, Arciero RA, Deberardino TM, Mazzocca AD. The Effects of Platelet-Rich Plasma on Tendon and Ligament: Basic Science and Clinical Application. Oper Tech Sports Med [Internet]. 2011;19(3):160–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.otsm.2011.04.001>
60. Nourissat G, Ornetti P, Berenbaum F, Sellam J, Richette P, Chevalier X. Does platelet-rich plasma deserve a role in the treatment of tendinopathy? Jt Bone Spine [Internet]. 2015;82(4):230–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2015.02.004>
61. Urrea-Chávez AM. Regenerative medicine with platelet rich plasma: a therapy for tendonitis in equines. Brazilian J Vet Anim Sci. 2012;6(1):79–86.
62. Schenkman D, Armien A, Pool R, Williams JM, Schultz RD, Galante JO. Systemic Proteoglycan Deposition Is Not a Characteristic of Equine Degenerative Suspensory Ligament Desmitis (DSLDD). J Equine Vet Sci [Internet]. 2009;29(10):748–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2009.07.015>
63. Dahlgren LA. Pathobiology of Tendon and Ligament Injuries. Clin Tech Equine Pract. 2007;6(3):168–73.
64. Werpy NM, Denoix JM. Imaging of the Equine Proximal Suspensory Ligament. Vet Clin North Am - Equine Pract [Internet]. 2012;28(3):507–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2012.08.005>
65. White N. Surgical treatment of suspensory desmitis. ACVS Symp Equine Small Anim ... [Internet]. 2003;2–4. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Surgical+treatment+of+suspensory+desmitis#4>